

E P



PCT

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)

〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 99049PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/05090	国際出願日 (日.月.年) 17.09.99	優先日 (日.月.年) 18.09.98
出願人 (氏名又は名称) エーザイ株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 3 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>8</sup> G01N30/08

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>8</sup> G01N30/08

Int. Cl<sup>8</sup> G01N30/60

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996年

日本国公開実用新案公報 1971-1999年

日本国登録実用新案公報 1994-1999年

日本国実用新案登録公報 1996-1999年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	JP, 58-206963, A (横川北辰電機株式会社), 2. 12月. 1983 (02. 12. 83), 全文, 図 1, 2, (ファミリーなし)	1-4 5-8
X A	JP, 58-196455, A (デュフアル・インテルナチオナル・レセールフ・ベー・ヴェー), 15. 11月. 1963 (15. 11. 93), 全文, 1-3 図, &, EP, 92860, B, &, AU, 8313889, A, &, DK, 8301823, A, &, ZA, 8302902, A, &, ES, 8402165, A, &, US, 4554071, A, &, CA, 1203224, A, &, IL, 68480, A, &, DE, 3364639, G	1-4 5-8
A	JP, 1-299458, A (東ソー株式会社), 4. 12月. 1989 (04. 12. 89), (ファミリーなし)	5-8

☒ C 欄の続きにも文献が列举されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09. 12. 99

国際調査報告の発送日

21.12.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

宮澤 浩



2J

9407

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 1-292249, A(東ソー株式会社), 24. 11月. 1989(24. 11. 89), (ファ ミリーなし)	5-8.

THIS PAGE BLANK (USPTO)



(51) 国際特許分類6 G01N 30/08	A1	(11) 国際公開番号 WO00/17633  (43) 国際公開日 2000年3月30日 (30.03.00)
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05090</p> <p>(22) 国際出願日 1999年9月17日 (17.09.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/263763 1998年9月18日 (18.09.98) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) エーザイ株式会社(EISAI CO., LTD.)(JP/JP) 〒112-8088 東京都文京区小石川4丁目6番10号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および</p> <p>(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 村田 薫(MURATA, Kaoru)(JP/JP) 〒305-0061 茨城県つくば市稲荷前9-7-509 Ibaraki, (JP) 真野成康(MANO, Nariyasu)(JP/JP) 〒301-0853 茨城県龍ヶ崎市松ヶ丘1-5-3 Ibaraki, (JP) 浅川直樹(ASAKAWA, Naoki)(JP/JP) 〒305-0044 茨城県つくば市並木3-26-13 Ibaraki, (JP)</p> <p>(74) 代理人 古谷 馨, 外(FURUYA, Kaoru et al.) 〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町2-17-8 浜町花長ビル6階 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 CA, JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) _</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54) Title: <u>COLUMN FOR CONCENTRATING COMPONENT IN SAMPLE</u></p> <p>(54) 発明の名称 試料中の成分濃縮用カラム</p> <div data-bbox="370 1291 1242 1795"> </div> <p>(57) Abstract A column for concentrating a component in a sample is used for high performance liquid chromatography and comprises a membrane for diffusing an object component and a membrane for absorbing an object component. The column is useful especially for microcolumn liquid chromatography.</p>		

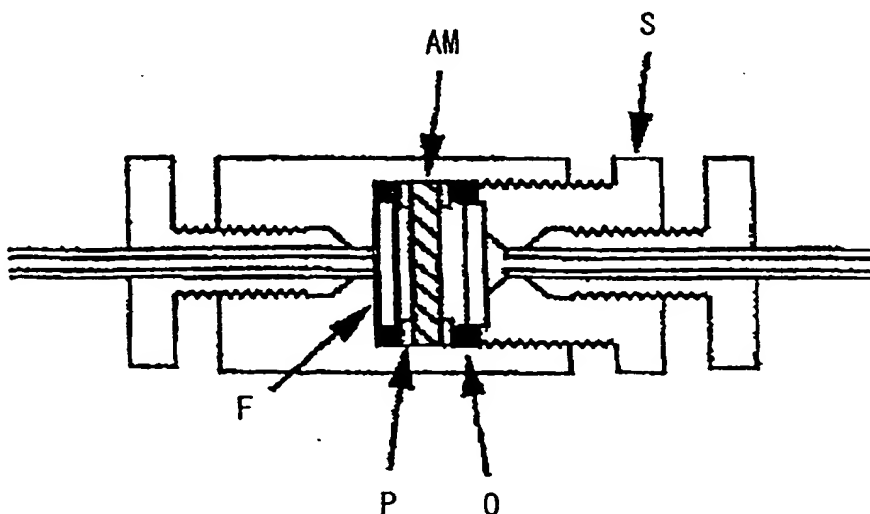
THIS PAGE BLANK (USPTO)



<p>(51) 国際特許分類6 G01N 30/08</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/17633</p> <p>(43) 国際公開日 2000年3月30日(30.03.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05090</p> <p>(22) 国際出願日 1999年9月17日(17.09.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/263763 1998年9月18日(18.09.98) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) エーザイ株式会社(EISAI CO., LTD.)[JP/JP] 〒112-8088 東京都文京区小石川4丁目6番10号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および</p> <p>(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ) 村田 薫(MURATA, Kaoru)[JP/JP] 〒305-0061 茨城県つくば市稲荷前9-7-509 Ibaraki, (JP) 真野成康(MANO, Nariyasu)[JP/JP] 〒301-0853 茨城県龍ヶ崎市松ヶ丘1-5-3 Ibaraki, (JP) 浅川直樹(ASAKAWA, Naoki)[JP/JP] 〒305-0044 茨城県つくば市並木3-26-13 Ibaraki, (JP)</p> <p>(74) 代理人 古谷 馨, 外(FURUYA, Kaoru et al.) 〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町2-17-8 浜町花長ビル6階 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 CA, JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) _</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>

(54)Title: COLUMN FOR CONCENTRATING COMPONENT IN SAMPLE

(54)発明の名称 試料中の成分濃縮用カラム



(57) Abstract

A column for concentrating a component in a sample is used for high performance liquid chromatography and comprises a membrane for diffusing an object component and a membrane for absorbing an object component. The column is useful especially for microcolumn liquid chromatography.

(57)要約

本発明は、試料中の成分濃縮用カラムを提供する。また、本発明は高速液体クロマトグラフィー用カラムにおいて、目的成分を拡散する膜及び目的成分を吸着する膜からなる成分濃縮用カラムである。本カラムは特にマイクロ液体クロマトグラフィーに有用である。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AL	アルバニア	EE	エストニア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AU	オーストラリア	FR	フランス	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LS	レソト	SK	スロヴァキア
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BE	ベルギー	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MA	モロッコ	TD	チャード
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MC	モナコ	TG	トーゴ
BJ	ベナン	GN	ギニア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BR	ブラジル	GW	ギニア・ビサウ	MG	マダガスカル	TZ	タンザニア
BY	ベラルーシ	HR	クロアチア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TM	トルクメニスタン
CA	カナダ	HU	ハンガリー		共和国	TL	トルコ
CF	中央アフリカ	ID	インドネシア	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
CG	コンゴ	IE	アイルランド	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
CH	スイス	IL	イスラエル	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CI	コートジボワール	IN	インド	MW	マラウイ	US	米国
CM	カメルーン	IS	アイスランド	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CN	中国	IT	イタリア	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CR	コスタ・リカ	JP	日本	NL	オランダ	YU	ユーゴスラビア
CU	キューバ	KE	ケニア	NO	ノールウェー	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	KG	キルギスタン	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CZ	チェッコ	KP	北朝鮮	PL	ポーランド		
DE	ドイツ	KR	韓国	PT	ポルトガル		
DK	デンマーク			RO	ルーマニア		

## 明細書

試料中の成分濃縮用カラム

## 技術分野

本発明は、高速液体クロマトグラフィー用成分濃縮カラム、高速液体クロマトグラフィーシステム及び試料中微量成分の分析方法に関する。

## 従来技術

高速液体クロマトグラフィーは、試料中の微量成分の分析に汎用されており、近年では質量分析装置と組合わせることにより、成分の分離と同定を高感度に行うシステムも用いられている。例えば、特開平 3-175355 号公報には、高速液体クロマトグラフィー質量分析における移動相の変換方法及び装置及びトラッピングカラムに試料中の目的成分を捕捉する装置が開示されている。

質量分析計に送られる液量は数十  $\mu$  L が限度であるため、高速液体クロマトグラフィー質量分析計における高速液体クロマトグラフィーの送液量は質量分析計の許容流量以下である必要がある。従来用いられているシステムのトラッピングカラムではデッドボリュームが大きいため、質量分析計の限度以下の量を送液したのでは質量分析計まで目的成分が達するのに長時間を要し、事実上分析不可能であった。また、トラッピングカラムは微粒子の充填剤が充填されているため、試料をトラッピングカラムに送る際には送液ポンプにより高圧をかける必要があった。

## 図面の簡単な説明

図 1 は、高速液体クロマトグラフィーの模式図である。

図 2 は、高速液体クロマトグラフィーの模式図である。

図 3 は、成分濃縮用カラムの模式図である。

図 4 は、本願発明にかかる高速液体クロマトグラフィーにより得られたクロマトグラムである。

## 発明の開示

本発明者はこれら従来のシステムの有する課題を解決すべく鋭意検討した結果、以下に示す構成により課題を解決できることを見出し本発明を完成した。

本発明は、高速液体クロマトグラフィー用カラムにおいて、目的成分を拡散する膜及び目的成分を吸着する膜から成る成分濃縮用カラムである。すなわち、高速液体クロマトグラフィーへのこの成分濃縮用カラムの用途である。

また、本発明は、図 1 中、送液ポンプ (P 1)、インジェクター (I)、切替バルブ (V)、拡散膜及び吸着膜からなる成分濃縮用カラム (M)、切替バルブ (V)、溶媒ミキシング装置 (MC) 及び切替バルブ (V) の順に連結し、別のラインにより送液ポンプ (P 2)、切替バルブ (V)、分離カラム (C) 及び検出器 (D) を連結した高速液体クロマトグラフィーである。本発明はまた、上記高速液体クロマトグラフィーにおいて、送液ポンプ (P 1) により送られる移動相により目的成分を、拡散膜及び吸着膜からなる成分濃縮用カラム (M) に補足し、切替バルブを切替えることにより、送液ポンプ (P 2) により送られる移動相により目的成分を流出させる試料中微量成分の分析方法である。

さらに、本発明は、図 2 中、送液ポンプ (P 1)、切替バルブ (V)、溶媒ミキシング装置 (MC) 及び切替バルブ (V) を連結し、別のラインにより送液ポンプ (P 2)、切替バルブ (V)、分離カラム (C) 及び検出器を連結し、更に別のラインにより切替バルブ (V)、拡散膜及び吸着膜からなる成分濃縮用カラム (M) 及び切替バルブ (V) を連結した高速液体クロマトグラフィーである。本発明はまたこの高速液体クロマトグラフィーにおいて、目的成分を拡散膜及び吸着膜からなる成分濃縮用カラム (M) に注入し、この時送液ポンプ (P 1) により溶媒ミキシング装置 (MC) に溶媒を充填しておき、切替バルブを切替えることにより、ポンプ (P 2) により送られる移動相により目的成分を流出させる試料中微量成分の分析方法である。

本発明において、目的成分を拡散する膜とは、焼結フィルター、高分子物質、セラミック、金属メッシュ又はセルロース繊維等でできた膜であり、高速液体クロマトグラフィーの移動相及び目的成分がこの膜を通過する際に、膜全体に拡散される。一方、目的成分を吸着する膜とは、スチレン樹脂、シリカゲル、イオン

交換樹脂又はこれらを化学修飾した物質を含有する膜である。化学修飾とはこれら物質の表面に化学物質を結合させることにより、表面の性質を変化させることであり、例えば、シリカゲル表面に存在する親水性を有するシラノール基にアルキル基、フェニル基等を結合させることによりシリカゲル表面を疎水的な性質に変化させることや、シリカゲルにイオン交換基（スルホン基、カルボン酸基、アミノ基等）を導入したイオン交換機能を保有させる等の化学修飾を挙げることができる。この膜への目的成分の吸着は、膜の性質と高速液体クロマトグラフィーの移動相組成に依存する。即ち、移動相の組成を変化させることにより、目的成分は吸着膜に吸着することもできるし、脱離することもできる。本発明における「濃縮」とは「吸着」とほぼ同義である。即ち、試料中の目的成分が吸着膜に吸着することにより吸着膜上において目的成分が試料溶液又は移動相溶液から濃縮されるのである。

本発明にかかる拡散膜及び吸着膜の直径は通常2～30mmである。拡散膜の厚さはその材質により一概に言えないが、通常0.2～3mmである。吸着膜の厚さはその材質により一概に言えないが、通常0.2～2mmである。

拡散膜と吸着膜は相接していてもよく、離れていてもよいが、両者の間隔が離れすぎると乱流が起こり、分析精度が悪くなるため1mm以下であることが望ましい。本発明においては吸着膜の両側に拡散膜を設置することができる。これによりカラムのどちら側から移動相を流しても試料成分が拡散されて吸着膜に達するためカラムの接続方向を気遣う必要がなく便利である。

本発明にかかる拡散膜及び吸着膜は容器内に設置される。容器の材質は特に限定されないが、通常はステンレススチール製である。膜の設置にあたっては移動相が漏れることを防ぐためにOリングを用いることが好ましい。また、容器内部の移動相の流路は、拡散膜に向かってテーパ状に広がっていることが好ましい。移動相の拡散膜中における拡散を容易にするためである。図3に本発明にかかる成分濃縮用カラムの概念図を示した。図中、Fは目的成分を拡散する膜、AMは目的成分を吸着する膜、OはOリング、Pはパッキンであり、ステンレス製の容器Sに収納されている。

本発明における成分濃縮用カラムは以下のように構成された高速液体クロマト

グラフィーとすることにより、微量成分の高速・高感度分析に適したシステムとなる。本システムを図1により詳細に説明する。図1は高速液体クロマトグラフィーの模式図であり、送液ポンプ（P1）、インジェクター（I）、切替えバルブ（V）、拡散膜及び吸着膜からなる成分濃縮用カラム（M）、切替えバルブ（V）、溶媒ミキシング装置（MC）及び切替えバルブ（V）が順に連結され、別に送液ポンプ（P2）、切替えバルブ（V）、分離カラム（C）及び検出器（D）が連結されている。この高速液体クロマトグラフィー・システムにおける成分の濃縮・分離方法は次のようである。

（A）送液ポンプ（P1）から膜濃縮用移動相を送出し、インジェクター（I）から試料溶液を注入し、膜濃縮用移動相で試料溶液を希釈しながら膜へ試料を送液して試料中の目的成分を膜に捕捉させる。同時に膜濃縮用移動相で、溶媒ミキシング装置を満たす。膜濃縮用移動相とは、吸着膜に目的成分を吸着させるための移動相であり、吸着膜が疎水的性質を有する場合には、水／メタノール等の比較的極性の大きな溶媒である。

（B）次に、送液ポンプ（P2）から送出される試料分離用移動相をバルブ（V）を切替えて溶媒ミキシング装置（MC）、膜濃縮装置（M）、分離用カラム（C）および検出器（D）を経て排出させる。試料分離用移動相とは、吸着膜から試料成分を離脱させ、さらに分離用カラムにおいて試料成分を分離するための移動相であり、吸着膜が疎水的性質を有する場合は、例えば水／アセトニトリル等の、膜濃縮用移動相より極性の小さな溶媒である。この時、膜濃縮用移動相と試料分離用移動相を溶媒ミキシング装置（MC）にて混合し、両者の移動相の混合にグラディエントを形成させながら膜濃縮装置に送液し、捕捉した試料中の目的成分を脱離させ、分離用カラム（C）で分離し、検出器（D）により目的成分を検出する。膜濃縮用移動相の流れる方向と試料分離用移動相の流れる方向は反対になる。溶媒ミキシング装置（MC）を使用し、膜濃縮用移動相と試料分離用移動相の混合にグラディエントを形成することにより、分離用カラムにおける目的成分の分離能が著しく向上するが、これが本システムの特徴の一つである。

ここでポンプとは高速液体クロマトグラフィー用の送液ポンプであり、バルブとは高速液体クロマトグラフィー用の十方バルブ、六方バルブ等である。インジ

エクターとは高速液体クロマトグラフィー中に試料溶液を注入するための装置であり、分離カラムとは試料中の目的成分を分離するためのカラムであり、目的に応じていわゆる順相カラム、逆相カラム等を適宜選択できる。これら装置は市販のものを使用することができる。

本発明にかかる高速液体クロマトグラフィーの別のシステムを図2により説明する。図2は、高速液体クロマトグラフィーの模式図であり、送液ポンプ（P 1）、切替えバルブ（V）、溶媒ミキシング装置（MC）及び切替えバルブ（V）が順に連結され、別に送液ポンプ（P 2）、切替えバルブ（V）、分離カラム（C）及び検出器が連結され、更に別のラインにより切替えバルブ（V）、拡散膜及び吸着膜からなる成分濃縮用カラム（M）及び切替えバルブ（V）が連結されている。

図2に示すシステムにおける成分の濃縮・分離方法は次のようである。

（A）移動相 1 が送液ポンプ（P 1）から送出され、ミキシングチャンバー（MC）を満たす。十方バルブ（V）に装着された本発明にかかる成分濃縮用カラムに、十方バルブのインジェクションポートから試料溶液を注入し、試料中の目的成分を上記成分濃縮用カラムに捕捉させた後、更に適当な溶媒で目的成分を膜から脱離させないようにして洗浄する。

（B）次に、バルブ（V）を切替えてポンプ（P 2）から試料分離用移動相を溶媒ミキシング装置（MC）、成分濃縮用カラム、分離用カラム（C）及び検出器（D）へと送液する。この時、移動相 1 と試料分離用移動相をミキシングチャンバー中で混合し、両者の混合にグラディエントを形成させながら、成分濃縮用カラムに送液し、捕捉した試料中の目的成分を脱離させ、分離用カラム（C）で分離する。この時、成分濃縮用カラムを通過する試料分離用移動相の流路は、試料溶液を注入した方向と反対方向である。溶媒ミキシング装置の働きは前述の通りであり、本発明の特徴の一つであるが、更に、図2に示すシステムでは、試料溶液を成分濃縮用カラムに手動で注入することができるが、これは本発明にかかる成分濃縮用カラムが移動相、試料溶液等の通過に対して圧力がかからないために可能となった顕著な効果であり、試料溶液の大量処理、成分の高速濃縮を可能とするものである。

本発明にかかる成分濃縮用カラムは、デッドボリウムが小さいため特にマイクロ液体クロマトグラフィーに適している。即ち従来の高速液体クロマトグラフィーで使用される移動相流量（数 $\text{ml}/\text{min}$ ）より極めて少ない流量（数十 $\mu\text{l}/\text{min}$ ）でも試料成分の濃縮、分離が可能であり、直接、質量分析計への接続も可能となる。また、移動相・試料溶液の通過に際してかかる圧力が極めて小さいため、高速濃縮が可能であり、また、試料溶液の手動注入も可能となる。

さらに、本発明にかかる成分濃縮カラムを装着した高速液体クロマトグラフィーシステムは試料溶液中の目的成分の濃縮・分離を極めて容易に行うことができる。

図2に示す本願発明にかかるシステムにより得られたクロマトグラムを図4に示すが、このクロマトグラムは従来の高速液体クロマトグラフィーによっては得ることができないものであり、本願発明の顕著な効果を示すものである。

図4のクロマトグラムは、次の分析条件により得られたものである。（CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=12 クロマト=1:MICRO.C00）

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：254nm）

分離用カラム：Inertsil ODS-2 (0.7mm I.D.  $\times$  150mm)

膜濃縮用移動相：0.1%酢酸アンモニウム水溶液

試料分離用移動相：0.1%酢酸アンモニウム含有アセトニトリル・エタノール混液（500：500）

流量：膜濃縮用 1.0ml/min

試料分離用 0.025ml/min

試料成分は、安息香酸 $n$ -プロピル、安息香酸ベンジル、安息香酸 $n$ -ブチル及び安息香酸 $n$ -ヘキシルをそれぞれ10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように10%アセトニトリル水溶液に溶解した。試料の注入量は、10 $\mu\text{L}$ である。

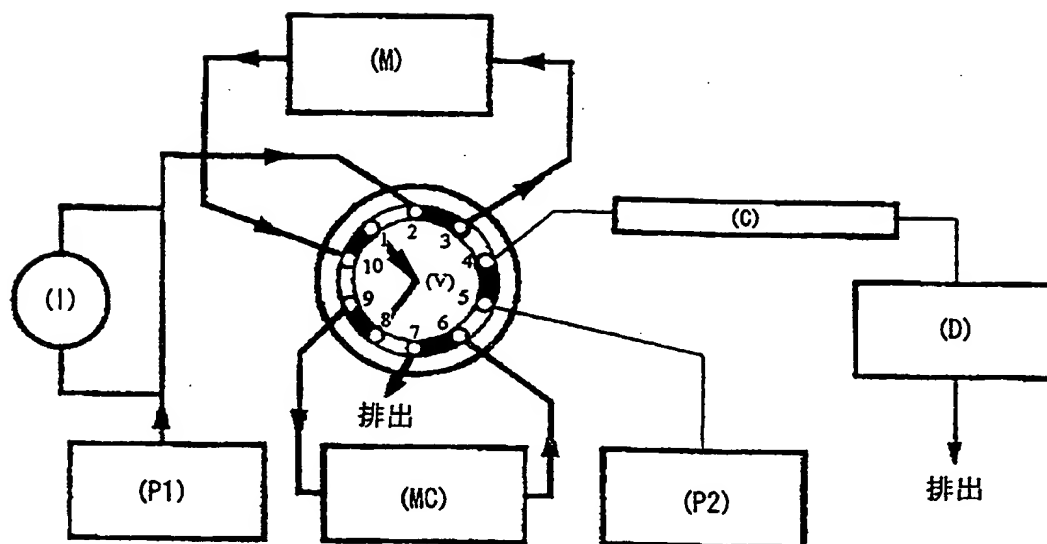


## 請求の範囲

1. 高速液体クロマトグラフィー用カラムにおいて、目的成分を拡散する膜及び目的成分を吸着する膜から成る成分濃縮用カラム。
2. 目的成分を吸着する膜の片側又は両側に、目的成分を拡散する膜を配置した請求項 1 に記載したカラム。
3. 目的成分を拡散する膜が、焼結フィルター、セラミック、金属メッシュ又はセルロース繊維である請求項 1 又は 2 記載のカラム。
4. 目的成分を吸着する膜が、スチレン樹脂、シリカゲル、イオン交換樹脂又はこれらを化学修飾した物質を含有する膜である請求項 1 又は 2 記載のカラム。
5. 送液ポンプ (P 1)、インジェクター (I)、切替えバルブ (V)、請求項 1 又は 2 記載の成分濃縮用カラム (M)、切替えバルブ (V)、溶媒ミキシング装置 (MC) 及び切替えバルブ (V) の順に連結し、別のラインにより送液ポンプ (P 2)、切替えバルブ (V)、分離カラム (C) 及び検出器 (D) を連結した高速液体クロマトグラフィー。
6. 送液ポンプ (P 1)、切替えバルブ (V)、溶媒ミキシング装置 (MC) 及び切替えバルブ (V) を連結し、別のラインにより送液ポンプ (P 2)、切替えバルブ (V)、分離カラム (C) 及び検出器 (D) を連結し、更に別のラインにより切替えバルブ (V)、請求項 1 又は 2 記載の成分濃縮用カラム (M) 及び切替えバルブ (V) を連結した高速液体クロマトグラフィー。
7. 請求項 5 記載の高速液体クロマトグラフィーにおいて、送液ポンプ (P 1) により送られる移動相により目的成分を請求項 1 又は 2 記載の成分濃縮用カラム (M) に捕捉し、切替えバルブを切替えることにより、送液ポンプ (P 2) により送られる移動相により目的成分を流出させる試料中微量成分の分析方法。
8. 請求項 6 記載の高速液体クロマトグラフィーにおいて、目的成分を請求項 1 又は 2 記載の成分濃縮用カラム (M) に注入し、この時送液ポンプ (P 1) により溶媒ミキシング装置 (MC) に溶媒を充填して置き、切替えバルブを切替えることにより、ポンプ (P 2) により送られる移動相により目的成分を流出させる試料中微量成分の分析方法。

ANNO D'ARRE DI ANK (115PTO)

図 1



THIS PAGE BLANK (USPTO)

図 2

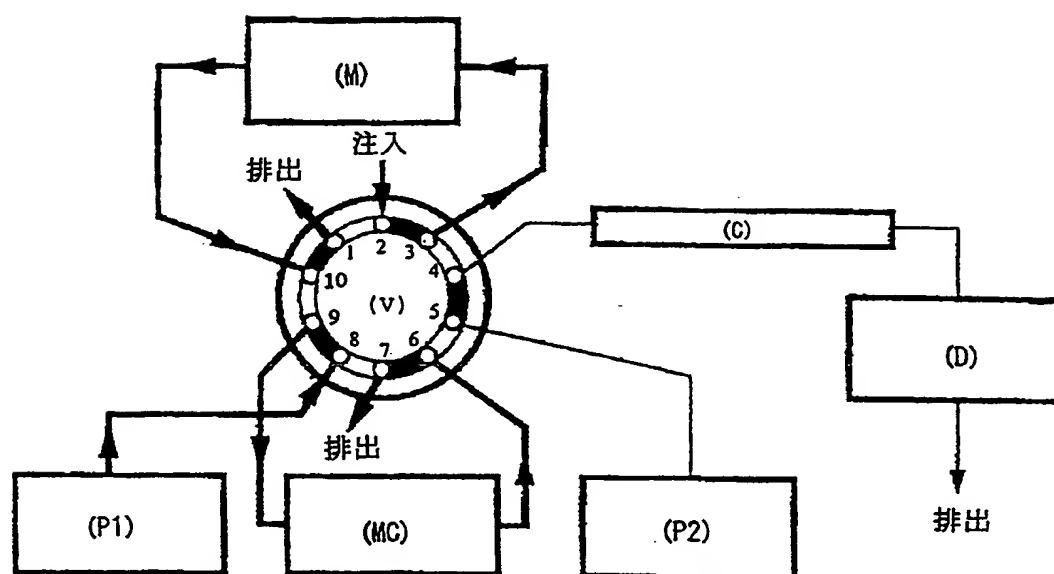
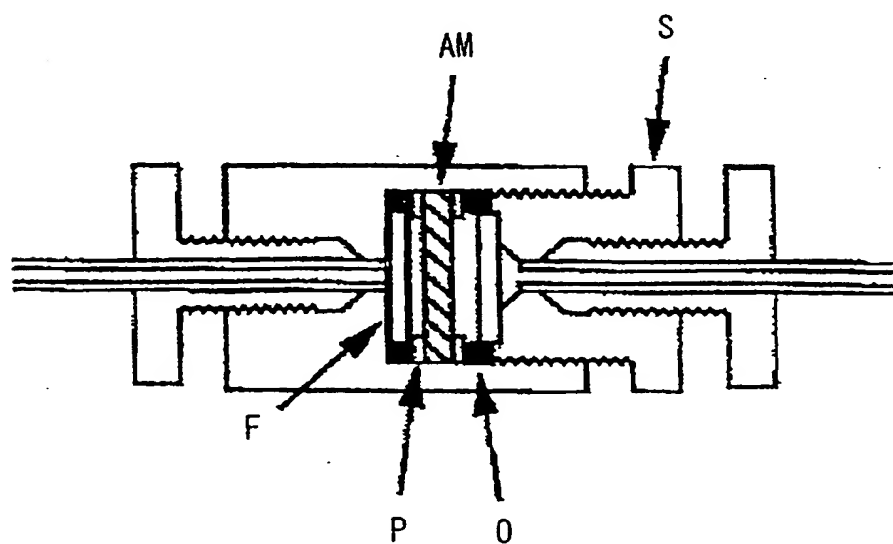
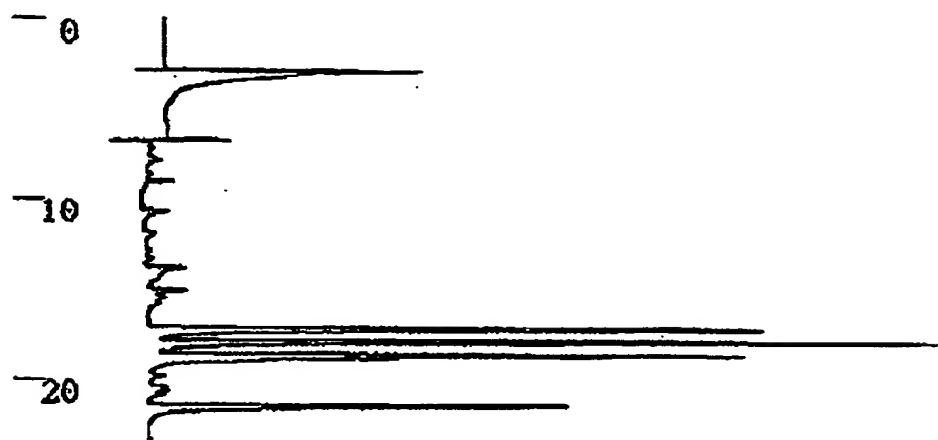


図 3



THIS PAGE BLANK (USPTO)

図 4



THIS PAGE BLANK (USPTO)



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05090

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>6</sup> G01N30/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>6</sup> G01N30/08Int.Cl<sup>6</sup> G01N30/60

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-1999
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-1999	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-1999

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP, 58-206963, A (Yokokawa Hokushin Electric Corp.), 02 December, 1983 (02.12.83), Full text; Figs. 1, 2 (Family: none)	1-4 5-8
X A	JP, 58-196455, A (Duphar International Research B.V), 15 November, 1993 (15.11.93), Full text; Figs. 1-3 & EP, 92860, B & AU, 8313889, A & DK, 8301823, A & ZA, 8302902, A & ES, 8402165, A & US, 4554071, A & CA, 1203224, A, & IL, 68480, A & DE, 3364639, G	1-4 5-8
A	JP, 1-299458, A (TOSOH CORPORATION), 04 December, 1989 (04.12.89) (Family: none)	5-8
A	JP, 1-292249, A (TOSOH CORPORATION), 24 November, 1989 (24.11.89) (Family: none)	5-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
09 December, 1999 (09.12.99)Date of mailing of the international search report  
28 December, 1999 (28.12.99)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 99/05090

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl <sup>6</sup> G01N30/08		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl <sup>6</sup> G01N30/08 Int. Cl <sup>6</sup> G01N30/60		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1926-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-1999年 日本国登録実用新案公報 1994-1999年 日本国実用新案登録公報 1996-1999年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	JP, 58-206963, A (横川北辰電機株式会社), 2. 12月. 1983 (02. 12. 83), 全文, 図 1, 2, (ファミリーなし)	1-4 5-8
X A	JP, 58-196455, A (デュフアル・インテルナチオナル・レセールフ・ ベール・ヴェー), 15. 11月. 1963 (15. 11. 93), 全文, 1-3 図, &, EP, 92860, B, &, AU, 8313889, A, &, DK, 8301823, A, &, ZA, 8302902, A, &, ES, 8402165, A, &, US, 4554071, A, &, CA, 1203224, A, &, IL, 68480, A, &, DE, 3364639, G	1-4 5-8
A	JP, 1-299458, A (東ソー株式会社), 4. 12月. 1989 (04. 12. 89), (ファ ミリーなし)	5-8
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列举されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 09. 12. 99	国際調査報告の発送日 21.12.99	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 宮澤 浩	2 J 9407
電話番号 03-3581-1101		内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 1-292249, A(東ソー株式会社), 24. 11月. 1989(24. 11. 89), (ファ ミリーなし)	5-8  —